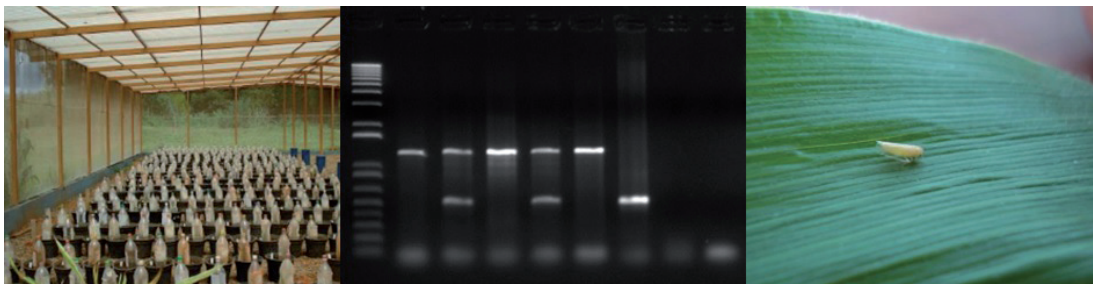


Infectividade da Cigarrinha *Dalbulus maidis* com Fitoplasma e Espiroplasma em Milho em Diferentes Épocas do Ano



ISSN 1679-0154
Setembro, 2015

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 120

Infectividade da Cigarrinha *Dalbulus maidis* com Fitoplasma e Espiroplasma em Milho em Diferentes Épocas do Ano

Sylvia Morais de Sousa
Elizabeth de Oliveira
Beatriz de Almeida Barros
Mateus Gonçalves de Abreu
Luiz Paulo Terra Hipólito

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges

Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso

Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de

Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Elizabeth de Oliveira e Beatriz de Almeida Barros

1ª edição

Versão Eletrônica (2015)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Infectividade da cigarrinha *Daubulus maidis* com fitoplasma e espiroplasma em milho em diferentes épocas do ano / Sylvia Moraes de Sousa ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

20 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 120).

1. Doença de planta. 2. *Zea mays*. 3. Enfezamento. 4. Praga de planta. I. Sousa, Sylvia Moraes de. II. Série.

CDD 632.3 (21. ed.)

© Embrapa 2015

Sumário

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| Resumo | 4 |
| Abstract | 6 |
| Introdução | 7 |
| Material e Métodos | 9 |
| Resultados e Discussão | 11 |
| Conclusões | 15 |
| Agradecimentos | 16 |
| Referências | 16 |

Infectividade da Cigarrinha *Dalbulus maidis* com Fitoplasma e Espiroplasma em Milho em Diferentes Épocas do Ano

***Sylvia Moraes de Sousa*¹**

***Elizabeth de Oliveira*²**

***Beatriz de Almeida Barros*³**

***Mateus Gonçalves de Abreu*⁴**

***Luiz Paulo Terra Hipólito*⁵**

Resumo

O milho é o principal cereal cultivado no mundo e é cultivado no Brasil durante todo o ano em vários estados. O enfezamento pálido e o enfezamento vermelho são doenças causadas pelos mollicutes *Spiroplasma kukelii* e um fitoplasma, respectivamente, e são um dos fatores que podem reduzir a produtividade do milho. Os agentes causais dessas doenças são transmitidos pela cigarrinha *Dalbulus maidis*, que se alimenta e se reproduz apenas no milho. O conhecimento sobre a transmissão e a predominância de cada um dos mollicutes pode ajudar na implementação de soluções para reduzir seu impacto na agricultura através de manejo adequado. O

¹Bióloga, DSc., Pesquisadora em Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, sylvia.sousa@embrapa.br

²Bióloga, DSc., Pesquisadora em Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, elizabeth.o.sabato@embrapa.br

³Bióloga, DSc., Analista da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, beatriz.barros@embrapa.br

⁴Graduando em Ciências Biológicas, Centro Universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM, Estagiário da Embrapa, teugoncalves2011@hotmail.com.

⁵Graduando em Ciências Biológicas, Centro Universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM, Bolsista PIBIC Fapemig, lpthipolito@yahoo.com.br

objetivo desse trabalho foi avaliar a infectividade natural da cigarrinha *D. maidis* com mollicutes, em diferentes épocas do ano. Para isso, foram coletadas 100 cigarrinhas *D. maidis* em três épocas diferentes do ano. Cada inseto foi confinado individualmente com a planta de milho para alimentação e transmissão de fitoplasma e/ou espiroplasma por 4 dias, e, após esse período, as cigarrinhas foram recapturadas e analisadas quanto à presença do patógeno, por PCR (reação em cadeia da polimerase). As plantas foram cultivadas até o final do ciclo para avaliação quanto à manifestação de sintomas dos enfezamentos causados pelos mollicutes, e a confirmação da presença desses patógenos na planta também foi determinada por PCR. Em todas as coletas, foram observadas baixa frequência de cigarrinhas portadoras de mollicutes e frequência ainda menor de plantas infectadas e sintomáticas. A análise das cigarrinhas recuperadas das plantas de milho, por teste de PCR, mostrou flutuação na predominância de cada um dos mollicutes dentro das três coletas. Os resultados obtidos permitem considerar que a incidência de enfezamentos no milho é menor do que a população de cigarrinhas infectantes com os mollicutes.

Palavras-chave: *Zea mays*, mollicutes, enfezamentos, doenças

Infectivity of *Dalbulus maidis* with phytoplasma and spiroplasma in corn at different times of the year

*Sylvia Moraes de Sousa*¹

*Elizabeth de Oliveira*²

*Beatriz de Almeida Barros*³

*Mateus Gonçalves de Abreu*⁴

*Luiz Paulo Terra Hipólito*⁵

Abstract

Maize is the main cereal produced in the world and it is cultivated in Brazil throughout the year in many states. The Corn Stunt Spiroplasma and Maize Bushy Stunt Phytoplasma are diseases caused by *Spiroplasma kukelii* and the Maize bushy stunt phytoplasma, respectively, and they are one of the factors that can reduce maize yield. The causal agents of these diseases are transmitted by the leafhopper *Dalbulus maidis*, which feed and reproduce only in maize. The knowledge about the transmission and prevalence of these mollicutes can help to implement solutions to reduce their impact on agriculture through appropriate management. The aim of this study was to evaluate the natural infectivity of *D. maidis* with mollicutes in different seasons. For this, 100 *D. maidis* leafhoppers were collected in three different seasons. Each insect (or leafhopper) was individually confined in one maize seedling for feeding and transmission of phytoplasma and/or spiroplasma, and, thereafter, it was recaptured and analyzed for the presence of the pathogen by PCR (Polymerase Reaction Chain). The plants were grown

until the end of the cycle for evaluation of symptoms from the diseases caused by mollicutes, and confirmation of their presence by PCR. In all collects, there were a low frequency of leafhoppers carrying mollicutes and often even smaller amount of infected and symptomatic plants. The analysis of the recovered leafhoppers from plants by PCR showed a fluctuation in the predominance of each mollicute within the three collections. The results support that the incidence of stunting diseases in maize is lower than the population of leafhoppers with mollicutes.

Keywords: *Zea mays*, mollicutes, corn stunting diseases

Introdução

O milho é o principal cereal cultivado no mundo, com 987,7 milhões de toneladas produzidas na safra de 2013/2014 (USDA, 2015). O Brasil é o terceiro maior produtor de milho, tendo produzido 79,3 milhões de toneladas em 2013/2014, ficando atrás somente dos Estados Unidos e da China, que produziram respectivamente 351,3 e 218,5 milhões de toneladas (USDA, 2015). O milho é cultivado em todo o território nacional, com cerca de 75% da área localizada nas regiões do centro-sul. Nos estados do Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, o cereal tem sido cultivado principalmente em plantios de segunda época (safrinha).

As doenças causadas por mollicutes são um dos fatores que podem reduzir a produtividade do milho. Essas doenças são sistêmicas e alteram a fisiologia das plantas infectadas, reduzindo a produção e causando prejuízos severos. Os mollicutes, fitoplasma e espiroplasma, são procariontes

da classe Mollicutes e causam as doenças denominadas enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho, respectivamente. Os mollicutes infectam o floema das plantas de milho; alteram a fisiologia da planta; reduzem a absorção de nutrientes, a exemplo do magnésio; causam redução no crescimento da planta e na produção de grãos (NAULT, 1980; MASSOLA JÚNIOR et al., 1999). O enfezamento pálido (*corn stunt spiroplasma*) é causado por *Spiroplasma kukelii* e o enfezamento vermelho (*maize bushy stunt*) está associado a um fitoplasma (NAULT, 1980; MASSOLA JÚNIOR et al., 1999). Essas doenças são transmitidas pela cigarrinha *Dalbulus maidis*, que se alimenta e se reproduz apenas no milho, tendo ampla ocorrência nas lavouras desse cereal, nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, assim como os enfezamentos (OLIVEIRA et al., 2003, 2008, 2010; OLIVEIRA; LOPES 2004a,b). A maior incidência de enfezamentos em plantios tardios e na safrinha é explicada por sobreposições dos ciclos da cultura e condições climáticas favoráveis à proliferação do inseto vetor e da doença (OLIVEIRA et al., 2002a, 2003, 2010).

Apesar das diferenças entre os sintomas dessas duas doenças de ocorrência ampla, o diagnóstico de enfezamento pálido e vermelho pode ser confundido com uma mistura de infecções e com vírus, e, além disso, os sintomas sofrem influência das variações de temperatura e das plantas hospedeiras (NAULT, 1980). Por isso, a detecção molecular do agente patogênico é de fundamental importância para a correta identificação da doença.

O conhecimento sobre a transmissão e a predominância de cada um dos mollicutes pode ajudar na implementação de soluções para reduzir seu impacto na agricultura através de

manejo adequado. O objetivo desse trabalho foi avaliar a infectividade natural da cigarrinha *D. maidis* com mollicutes, em diferentes épocas do ano.

Material e Métodos

Foram coletadas 100 cigarrinhas *Dalbulus maidis* com auxílio de rede entomológica em cada uma das três épocas de coleta (junho/2013, coleta I; outubro/2013, coleta II e abril/2014, coleta III) na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas – MG. A coleta foi feita em um período de 1 a 3 dias, em diversos locais da área experimental, em diferentes materiais de milho em diferentes estádios de desenvolvimento. Em campo, os insetos coletados foram transferidos para sacos plásticos transparentes e transportados para o laboratório, onde foram soltos em caixa preta com placa de acrílico branco e luz ao fundo, para separação das cigarrinhas. As cigarrinhas *D. maidis* foram coletadas com ponteira plástica com fundo vedado com tecido *voil*, acoplada a uma mangueira de plástico ligada a um compressor, e foram confinadas em plântulas de milho pipoca, acondicionadas em gaiolas de garrafa pet com abertura vedada com tecido *voil*, para aeração, em vasos em viveiro telado protegido contra insetos (Figura 1A). Cada inseto *D. maidis* (Figura 1B) foi confinado individualmente por quatro dias nas plântulas de milho pipoca com 8 dias após semeadura, para alimentação e transmissão de fitoplasma e/ou espiroplasma. Após esse período, as cigarrinhas foram recapturadas, colocadas em tubos *ependorf* e armazenadas a -80 °C. As plantas foram cultivadas até o final do ciclo para avaliação quanto à manifestação de sintomas dos enfezamentos causados por mollicutes, e confirmação da determinação da presença desses patógenos por PCR.

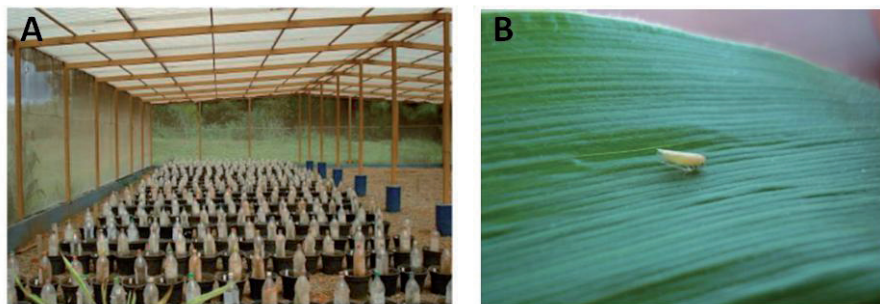


Figura 1. (A) Gaiolas para confinamento de cigarrinhas nas plântulas de milho e inoculação de mollicute; **(B)** Cigarrinha *Dalbulus maidis*.

A extração de DNA genômico das plantas e das cigarrinhas foi feita de acordo o método de Saghai-Marooft et al. (1984). PCR (reação da polimerase em cadeia) multiplex foi realizado para determinação simultânea de espiroplasma e de fitoplasma com os primers R16F2 (5'-acgactgctgctaagactgg-3') e R16R2 (5'-tgacgggcggtgtgtacaaaccccg-3') para detecção de fitoplasma (LEE et al., 1993) e CSSF2 (5'-ggcaaagatgtaacaaaagt-3') e CSSR6 (5'-gttacttcaacagtagttgcg-3') para detecção de espiroplasma (BARROS et al., 2001). Como controles internos, foram utilizados os primers da citocromo oxidase *dalCOLfwd* (5'-tgactcaacctgggtcggtt-3') e *dalCOLrev* (5'-tggtataggattgggtcacca-3') (PALOMERA et al., 2012) para cigarrinha e os primers da actina *ACTF* (5'-tgatgaagattctcactgag-3') e *ACTR* (5'-gatccacatctgttggaacg-3') para plantas. A reação multiplex foi feita com tampão 10x, 0,2 mM dTNP, 1,5 mM MgCl₂, 0,5 μM de cada primer, 1U/μL Taq DNA polimerase, 50 ng DNA e água para completar o volume e os ciclos foram 94 °C – 2min, 35 ciclos (94 °C – 1 min, 50 °C – 2 min, 72 °C – 3 min) e 72 °C – 10 min. Para os controles internos, foram utilizadas as mesmas condições de reação, e os ciclos

foram: 94 °C – 2 min, 35 ciclos (94°C – 20 seg, 60°C – 20 seg, 72°C – 30 seg), e 72°C – 50 min.

Os fragmentos da reação de PCR foram revolvidos em gel de agarose 1,0% corado com GelRed™ (Uniscience, São Paulo, São Paulo, Brasil), visualizados sob luz ultravioleta e digitalizados em um sistema processador de imagens.

Resultados e Discussão

Apesar de terem sido coletadas 100 cigarrinhas *D. maidis* em cada um dos períodos de coleta, um número menor de cigarrinhas foi recuperado, após confinamento nas plântulas de milho pipoca para transmissão dos mollicutes, sendo, em cada uma das coletas, 70, 88 e 77, respectivamente (Tabela 1).

Entre as plantas de milho pipoca submetidas à alimentação das cigarrinhas da primeira coleta, apenas quatro manifestaram sintomas de avermelhamento e seca das margens das folhas, que são indicativos da infecção com mollicutes, e uma delas apresentou estrias esbranquiçadas, características da infecção por espiroplasma. Outras quatro plantas de milho submetidas à alimentação das cigarrinhas da segunda coleta manifestaram sintomas dessas doenças, e oito plantas, referentes às cigarrinhas da terceira coleta. Esse resultado evidenciou baixa infectividade natural das cigarrinhas, independentemente da época do ano em que foram coletadas.

A análise das cigarrinhas recuperadas das plantas de milho pipoca, por teste de PCR mostrou flutuação na predominância de cada um dos mollicutes dentro das três coletas, sendo que na coleta I houve predominância de fitoplasma; na coleta

II, de espiroplasma; e na coleta III ambos apareceram na mesma proporção, sendo que apenas na coleta II não houve detecção de ambos os molicutes na mesma cigarrinha (Tabela 1). Os resultados da detecção dos molicutes nas plantas que apresentaram sintomas dos enfezamentos, referentes às cigarrinhas das coletas 1 e 2, são apresentados na Tabela 2.

A Figura 2A mostra a presença de fitoplasma e espiroplasma tanto na cigarrinha quanto na planta. O gene da citocromo oxidase (mtCOI) foi usado como controle para o DNA da cigarrinha, o que permitiu constatar que o resultado negativo foi real e não por causa da baixa qualidade do DNA (Figura 2B). Além disso, foi utilizado um gene controle, actina, para testar a qualidade do DNA em todas as plantas que apresentaram sintoma (Figura 2C).

Em todas as coletas, foi observada baixa frequência de cigarrinhas portadoras de molicutes e frequência ainda menor de plantas infectadas e sintomáticas. Considerando o número de plantas com sintomas, em relação ao número de cigarrinhas recuperadas das plântulas de milho pipoca, nas diferentes épocas, o nível de infectividade natural das cigarrinhas *D. maidis*, com molicutes, foi de cerca de 4, 6 e 8%. Esses níveis de infectividade natural podem ser considerados baixos, e confirmam resultados obtidos por Oliveira et al. (2002c). Esses autores obtiveram níveis de infectividade natural de *D. maidis* variando de 2 a 20% para espiroplasma e 4% para fitoplasma, em amostras de cigarrinhas coletadas em áreas cultivadas com milho, em diferentes estádios de desenvolvimento, no Estado do Mato Grosso do Sul, nas safras 97/98 e 98/99, confinando grupos de três a quatro indivíduos por plântula de milho e

calculando com fórmula matemática a taxa individual de infectividade.

É possível que a infecção das plântulas de milho seja dependente da concentração dos molicutes na cigarrinha, considerando-se que foi detectado maior número de cigarrinhas portadoras desses patógenos, em relação ao número de plantas que apresentaram sintomas de enfezamento. Apenas quando a banda indicativa da presença de fitoplasma na cigarrinha *D. maidis* é forte, no teste PCR, obtém-se a transmissão desse patógeno para a planta de milho (OLIVEIRA et al., 2011). Isso sugere a dependência de concentração do patógeno no inseto-vetor para a infecção da plântula de milho, quando se alimenta da seiva dessa plântula. Além disso, é comum a obtenção do resultado falso negativo em razão da distribuição desuniforme desses patógenos nos tecidos da planta (OLIVEIRA et al., 2002b), qualidade do DNA e de outros fatores desconhecidos.

Os resultados obtidos permitem considerar que a incidência de enfezamentos no milho é menor do que a população de cigarrinhas infectantes com os molicutes. O enfezamento pode aumentar se houver multiplicação e concentração dos agentes patogênicos no inseto-vetor, condição que pode ocorrer em função da temperatura ambiente. Efeitos favoráveis da temperatura em torno de 30 °C durante o dia e 25 °C durante a noite favorecendo os efeitos dessas doenças nas plantas de milho foram demonstrados por Nault (1980). Temperaturas médias noturnas acima de 17 °C favorecendo a aquisição e a transmissão dos molicutes por *D. maidis* em milho também foram mostrados por Oliveira et al. (2007, 2011). Outra evidência de que esse molicute aumenta em função da temperatura é o

fato de que o *S. kunkelii* é cultivado *in vitro* em temperaturas em torno de 30 °C (WHITCOMB et al., 1986).

Tabela 1. Resultado dos testes de PCR quanto a presença de fitoplasma e espiroplasma em cigarrinhas coletadas em campo.

| Coleta | Total cigarrinhas | Fitoplasma | Espiroplasma | Fitoplasma/ Espiroplasma |
|--------|-------------------|------------|--------------|-----------------------------|
| I | 70 | 6 | 0 | 2 |
| II | 88 | 0 | 5 | 0 |
| III | 77 | 2 | 3 | 3 |

Tabela 2. Resultado dos testes de PCR quanto a presença de fitoplasma e espiroplasma em plantas com sintoma de enfezamento.

| Coleta | Total plantas | Fitoplasma | Espiroplasma | Fitoplasma/ Espiroplasma |
|--------|---------------|------------|--------------|-----------------------------|
| I | 4 | 3 | 0 | 1 |
| II | 4 | 2 | 0 | 1 |
| III* | 8 | - | - | - |

*Não analisado

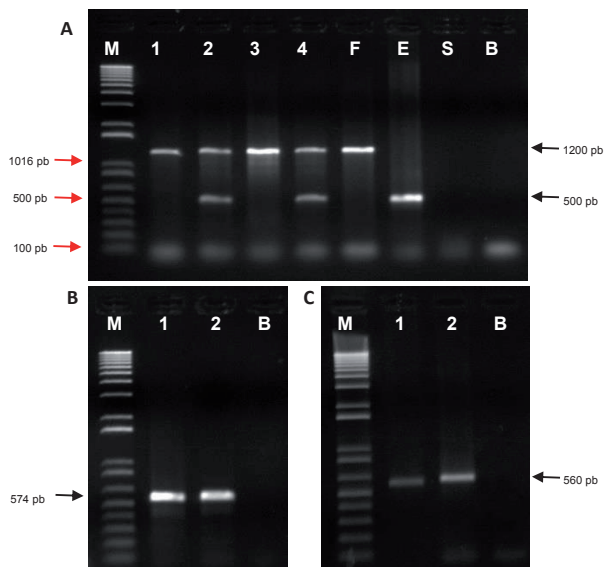


Figura 2. (A) Reações de PCR para detecção de fitoplasma e espiroplasma em cigarrinhas (amostras 1 e 2) e plantas sintomáticas de milho (3 e 4). F e E = controles positivos para fitoplasma e espiroplasma, respectivamente. S = cigarrinha sadia. B = branco. Para controles de reação foram utilizados os controles internos: citocromo oxidase para cigarrinhas **(B)** e actina **(C)** para milho. M = 1 kb Plus Ladder (Invitrogen). As setas pretas indicam o tamanho do inserto amplificado e as setas vermelhas, o tamanho indicado pelo Ladder.

Conclusões

Houve flutuação na predominância de cada um dos molícutes nas cigarrinhas considerando as três coletas.

A manifestação do sintoma de enfezamento ocorreu em apenas 4% a 8% das plantas, evidenciando baixa infectividade natural das populações de cigarrinhas amostradas, sendo que houve predominância de fitoplasma.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Márcio Geraldo Martineli pela ajuda na condução dos experimentos e à Embrapa pelo apoio financeiro.

Referências

BARROS, T. S. L.; DAVIS, R. E.; RESENDE, R. O. Design of a polymerase chain reaction for specific detection of corn stunt spiroplasma, *Spiroplasma kunkelii*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, p. 475-480, 2001.

LEE, I. M.; HAMMOND, R. W.; DAVIS, R. E.; GUNDERSEN, D. E. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasmalike organisms. **Phytopathology**, St. Paul, v. 83, n. 8, p. 834-842, 1993.

MASSOLA JÚNIOR, N. S.; BEDENDO, I. P.; AMORIM, L.; LOPES, J. R. S. Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 136-142, 1999.

NAULT, L. R. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 7, p. 659-662, 1980.

OLIVEIRA, E.; CARVALHO, R. V.; DUARTE, A. P.; ANDRADE, R. A.; RESENDE, R. O.; OLIVEIRA, C. M.; RECO, P. C. Mollicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 38-46, 2002a.

OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M.; SOUZA, I. R. P.; MAGALHÃES, P. C.; CRUZ, I. Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos mollicutes e interações com genótipos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 1, p. 53-62, 2002b.

OLIVEIRA, C. M.; MOLINA, R. M. S.; ALBRES, R. S.; LOPES, J. S. Disseminação de mollicutes do milho a longas distâncias por *Dalbulus maidis* (Hemiptera; cicadellidae). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 91-95, 2002c.

OLIVEIRA, E.; RESENDE, R. O.; GIMÉNEZ PECCI, M. L. P.; LAGUNA, I. G.; HERRERA, P.; CRUZ, I. Ocorrência e perdas causadas por mollicutes e vírus na cultura do milho safrinha no Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 1, p. 19-25, jan. 2003.

OLIVEIRA, C. M.; LOPES, J. R. S. Técnicas para criação da cigarrinha-do-milho e inoculação de mollicutes e vírus em plantas. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004a. p. 89-115.

OLIVEIRA, C. M.; LOPES, J. R. S. Cigarrinha-do-milho: aspectos taxonômicos e ecológicos, sobrevivência na entressafra. In: OLIVEIRA, E.; OLIVEIRA, C. M. (Ed.). **Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores e mancha por Phaeosphaeria**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004b. p. 61-88.

OLIVEIRA, E.; SANTOS, J. C.; MAGALHÃES, P. C.; CRUZ, I. Maize bushy stunt phytoplasma transmission by *Dalbulus maidis* is

affect by spiroplasma acquisition and environmental conditions. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 60, n. 2, p. 229-230, 2007.

OLIVEIRA, E.; SOUZA, I. R. P.; ALVES, E.; OLIVEIRA, C. M. Incidência do inseto-vetor de mollicutes e de enfezamentos em milho. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 34, p. 95-96, 2008. Suplemento.

OLIVEIRA, E.; LANDAU, E. C.; GUIMARÃES, P. E. O.; GUIMARÃES, L. J. M. Resistência do milho ao enfezamento causado por espiroplasma e ao enfezamento causado por fitoplasma. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. **Resumos**. Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. 1 CD-ROM.

OLIVEIRA, E.; SOUSA, S. M. de; LANDAU, E. C. Transmission of maize bushy stunt phytoplasma by *Dalbulus maidis* leafhopper. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 64, p. 153-154, 2011. Suplemento.

PALOMERA, V.; BERTIN, S.; RODRIGUEZ, A.; BOSCO, D.; VIRLA, E.; MOYA-RAYGOZA, G. Is there any genetic variation among native mexican and argentinian populations of *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae)? **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 95, p. 150-155, 2012.

SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. **Proceedings of National Academy of**

Sciences of United States of America, Washington, v. 81, p. 8014-8018, 1984.

USDA. United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdHome.aspx>>. Acesso em: 29 jan. 2015.

WHITCOMB, R. F.; CHEN, T. A.; WILLIAMSON, D. L.; LIAO, C.; TULLY, J. G.; BOVÉ, J. M.; MOUCH, E. S. C.; ROSE, D. L.; COAN, M. E.; CLARK, T. B. *Spiroplasma kukelii* sp. Nov., characterization of the etiological agent of corn stunt disease. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 36, p. 170-178, 1986.

